

แบคทีเรียหมักย่อยในทางเดินอาหารของช้าง (Bacterial fermenter in gastrointestinal tract of elephant)

ณัฐวุฒิ สถิตเมธี

ภาควิชาชีวศาสตร์ทางสัตวแพทย์และสัตวแพทย์สาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ช้างเป็นสัตว์กระเพาะเดี่ยว (single stomach) ที่กินพืชเป็นอาหารเพียงอย่างเดียว (herbivore) มีระบบทางเดินอาหารที่คล้ายกับม้า ไม่มีถุงน้ำดี (gall bladder) โดยระบบทางเดินอาหารของช้างเริ่มตั้งแต่ปาก หลอดอาหาร กระเพาะ ลำไส้เล็ก ลำไส้ตัน ลำไส้ใหญ่ ลำไส้ตรง และทวารหนัก นอกจากนี้ยังมีอวัยวะที่ช่วยเสริมการทำงานภายในระบบทางเดินอาหาร คือ ตับและตับอ่อน⁽¹⁾ โดยน้ำดีจากตับจะช่วยในการย่อยและดูดซึมไขมัน ส่วนน้ำย่อยจากตับอ่อนจะทำหน้าที่ย่อยสลายโปรตีนและแป้ง⁽²⁾ ช้างมีระบบการย่อยและดูดซึมอาหารเหมือนกับคนและสัตว์กระเพาะเดี่ยวทั่วไป แต่เนื่องจากช้างเป็นสัตว์กินพืชการหมักย่อยอาหารจะเกิดที่ส่วนท้ายของทางเดินอาหาร (hindgut fermenter) ซึ่งจะแตกต่างจากสัตว์กระเพาะรวมที่การหมักย่อยจะเกิดขึ้นภายในกระเพาะอาหารที่พัฒนาขึ้นมาเพื่อการหมักย่อยโดยเฉพาะ แต่ในช้างนั้นส่วนของลำไส้จะมีขนาดใหญ่และระหว่างลำไส้เล็กและลำไส้ใหญ่จะเป็นส่วนของลำไส้ตัน (ceacum) ซึ่งมีลักษณะเป็นถุงปลายตัน⁽³⁾ ผนังภายในของลำไส้ตันจะมีรอยพับจำนวนมาก เพื่อเพิ่มพื้นที่ในการดูดซึมสารอาหาร ซึ่งลำไส้ตันเป็นส่วนสำคัญที่ขบวนการหมักย่อย

เกิดขึ้น⁽³⁾ ซึ่งการหมักย่อยในส่วนท้ายเช่นนี้พบได้ในสัตว์จำพวกม้าและกระต่าย สำหรับช้างแล้วนั้นระบบการย่อยอาหารจะคล้ายคลึงกับระบบทางเดินอาหารของม้าเป็นอย่างมาก โดยในช้างจะสามารถพบอาหารที่รอการหมักย่อยอยู่ที่บริเวณลำไส้ตัน และส่วนต้นของลำไส้ใหญ่อยู่ถึง 70%

ในกระเพาะหมัก (rumen) ของสัตว์เคี้ยวเอื้องมีการศึกษาที่แพร่หลายและเป็นที่น่าสนใจมากที่สุดในกลุ่มสัตว์ที่มีการหมักย่อยในทางเดินอาหาร⁽⁴⁾ โดยมีแบคทีเรียที่หมักย่อย cellulose (cellulolytic bacteria) จำนวนมากที่ถูกพบได้ในกระเพาะหมัก ชนิดของแบคทีเรียหลักๆ ที่มีความสามารถในการย่อย cellulose ในกระเพาะหมัก ได้แก่ *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus flavefaciens* และ *R. albus*^(5, 6, 7, 8) สำหรับรายงานการศึกษาระบบทางเดินอาหารและกระบวนการหมักย่อยของช้างจะมีน้อยมาก ส่วนใหญ่จะอ้างอิงและเปรียบเทียบกับระบบทางเดินอาหารของสัตว์เคี้ยวเอื้องหรือม้าที่มีลักษณะโครงสร้างและการทำงานคล้ายคลึงกันมากที่สุด ซึ่งพบว่าภายในทางเดินอาหารของม้าจะเป็นที่อยู่ของจุลชีพ (Microorganism) จำนวนมาก ส่วนใหญ่จะเป็น

กลุ่มของแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจน (anaerobic bacteria) เชื้อรา (Fungi) และโปรโตซัว (protozoa) ⁽⁵⁾ โดยเฉพาะในลำไส้ต้นที่มีหน้าที่ในการหมักอาหาร จำพวกพืชที่มีโครงสร้างของผนังเซลล์ ซึ่งมี cellulose เป็นองค์ประกอบหลัก โดยปกติร่างกายของสัตว์จะไม่สามารถผลิตเอนไซม์มาย่อย cellulose ได้ จึงเป็นหน้าที่ของแบคทีเรียที่สามารถหมักย่อยเซลลูโลสได้ (cellulolytic bacteria) ที่อาศัยอยู่ภายในทางเดินอาหารจะรับผิดชอบในการหมักย่อยเซลลูโลส จนกระทั่งได้สารอาหารที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป เช่น การหมักย่อยจนได้เป็นกรดไขมันชนิดสายสั้น (short-chain fatty acid) ได้แก่ primarily acetate, propionate, butyrate และ amino acids อันเป็นผลผลิตที่ร่างกายสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ เป็นต้น ระบบนิเวศวิทยาของจุลชีพ (microbial ecosystem) ในระบบทางเดินอาหารของม้านั้นกลุ่มเชื้อแบคทีเรียไร้อากาศ (anaerobic bacteria) เชื้อรา และโปรโตซัว ⁽⁹⁾ จะทำหน้าที่ในการหมักย่อย เช่นเดียวกันกับในสัตว์กระเพาะรวม โดยสามารถจำแนกตามการใช้ประโยชน์ของอาหารหรือผลผลิตที่สังเคราะห์ได้คร่าวๆ ⁽⁹⁾ ดังนี้ คือ

(1) Cellulolytic bacteria เป็นแบคทีเรียที่พบมากที่สุดในการหมัก โดยเป็นแบคทีเรียกลุ่มที่มีการผลิตเอนไซม์ cellulase เพื่อย่อยสลาย cellulose รวมทั้งอาจย่อย cellobiose ได้ด้วยแบคทีเรียชนิดที่สำคัญในกลุ่มนี้ได้แก่ *Ruminococcus albus*, *R. flavefaciens*, *Bacteroides succinogenes*, *Cillobacterium cellulosolvens* รวมทั้ง *Clostridium* spp. ต่างๆ

(2) Hemicellulolytic bacteria เป็นแบคทีเรียที่มีความสามารถในการย่อย cellulose ได้และยังสามารถย่อย hemicellulose ได้อีกด้วย รวมทั้งแบคทีเรียที่สามารถย่อย hemicellulose ได้แต่แบคทีเรียกลุ่มนี้จะไม่สามารถย่อย cellulose ได้ แบคทีเรียชนิดที่สำคัญในกลุ่มนี้ได้แก่ *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Lachnospيريا multiparens* และ *Bacteroides ruminicola* เป็นต้น

แบคทีเรียในกลุ่ม (1) และ (2) ข้างต้นจะพบมากในทางเดินอาหารของสัตว์ที่เลี้ยงด้วยอาหารหยาบเป็นหลัก นอกจากนั้นยังอาจพบแบคทีเรียในกลุ่มต่างๆ ดังนี้

(3) Amylolytic bacteria เป็นแบคทีเรียที่มีเป็นจำนวนมากในทางเดินอาหารของสัตว์ที่ได้รับอาหารชั้นที่มี amylose อยู่สูง แบคทีเรียชนิดที่สำคัญในกลุ่มนี้ได้แก่ *Bacteroides amylophilus*, *Succinimonas amylophilus*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Selenomonas ruminantium*, *Streptococcus bovis* และ *Bacteroides ruminicola* เป็นต้น

(4) Acid-utilizing bacteria เป็นแบคทีเรียที่สามารถใช้กรดต่างๆ ได้ แบคทีเรียชนิดที่สำคัญในกลุ่มนี้ได้แก่ *Veillonella gazogenes*, *V. alcalesceus*, *Propionic Bacterian* sp., *Selemonas ruminantium*, *Reptostreptococcus elsdenii* และ *Selemonas lactilytica* เป็นต้น

(5) Proteolytic bacteria เป็นแบคทีเรียที่สามารถใช้กรดอะมิโนเป็นแหล่งพลังงาน แบคทีเรียชนิดที่สำคัญในกลุ่มนี้ได้แก่ *Bacteroides amylophilus*, *Clostridium sporogens* และ *Bacillus licheniformis* เป็นต้น

(6) Ammonia-producing bacteria เป็นแบคทีเรียที่สามารถสร้างแอมโมเนียได้ แบคทีเรียชนิดที่สำคัญในกลุ่มนี้ได้แก่ *Bacteroides ruminicola*, *Selenomonas ruminantivu*, *Reptostreptococcus eslsdenii* และ *Butyrivibrio* spp.

(7) Methanogenic bacteria เป็นแบคทีเรียกลุ่มที่สามารถในการสร้างก๊าซมีเทน (methane) แบคทีเรียชนิดที่สำคัญในกลุ่มนี้ได้แก่ *Methanobacterium ruminatium* และ *M. formicicum*

(8) Lipolytic bacteria เป็นแบคทีเรียกลุ่มที่มีความสามารถที่ใช้ glycerol ได้แต่ยังไม่ทราบเป็นที่แน่ชัดว่า species ใดที่มีความสามารถในการย่อย lipid ได้ผลผลิตเป็น glycerol

(9) Vitamin-synthesizing bacteria เป็นแบคทีเรียกลุ่มที่มีความสามารถในการสังเคราะห์ vitamin B complex ได้ แต่การศึกษายังไม่ทราบชัดว่าเป็น species ใดที่ทำหน้าที่ในการย่อยสลาย cell wall polysaccharides

ตารางที่ 1 แสดงชนิดของแบคทีเรียหมักย่อย, หน้าที่และผลผลิตที่ได้หลังการหมักย่อย ⁽⁴⁾

Species	Function *	Products **
<i>Fibrobacter succinogenes</i>	C,A	F,A,S
<i>Ruminococcus albus</i>	C,X	F,A,E,H,C
<i>Ruminococcus flavefaciens</i>	C,X	F,A,S,H
<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>	C,X,PR	F,A,L,B,E,H,C
<i>Clostridium lochheadii</i>	C,PR	F,A,B,E,H,C
<i>Streptococcus bovis</i>	A,S,SS,PR	L,A,F
<i>Ruminobacter amylophilus</i>	A,P,PR	F,A,S
<i>Prevotella ruminicola</i>	A,X,P,PR	F,A,P,S
<i>Succinimonas amylolytica</i>	A,D	A,S
<i>Selenomonas ruminantium</i>	A,SS,GU,LU,PR	A,L,P,H,C
<i>Lachnospira multiparus</i>	P,PR,A	F,A,E,L,H,C
<i>Succinovibrio dextrinosolvens</i>	P,D	F,A,L,S
<i>Methanobrevibacter ruminantium</i>	M,HU	M
<i>Methanosarcina barkeri</i>	M,HU	MC
<i>Treponema bryantii</i>	P,SS	F,A,L,S,E
<i>Megashaera elsdenii</i>	SS,LU	A,P,B,C,CP,H,C
<i>Lactobacilli</i> sp.	SS	L
<i>Anaerovibrio lipolytica</i>	L,GU	A,P,S
<i>Eubacterium ruminantium</i>	SS	F,A,B,C
<i>Oxalobacter formigenes</i>	O	F,C
<i>Wolinella succinogenes</i>	HU	S,C

* C=cellulolytic; X=xylanolytic; A=amylolytic; D=dextrinolytic; P=pectinolytic; PR=proteolytic; L=lipolytic; M=methanogenic; GU=glycerol-utilizing; SS=major soluble sugar fermenter; LU=lactate-utilizing; HU=hydrogen utilizer; O=oxalate-degrading
 ** F=formate; A=acetate; E=ethanol; P=propionate; L=lactate; B=butyrate; S=succinate; V=valerate; CP=caproate; H=hydrogen; C=carbon dioxide; M=methane

Ruminococcus spp. เป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่ไม่ใช้ออกซิเจนในการเจริญเติบโต มีรูปร่างกลม (obligatory anaerobic gram positive coccoid bacterium) เคลื่อนที่ไม่ได้ (non-motile) ซึ่งพบได้ในกระเพาะหมัก, ลำไส้ และ ลำไส้ตัน ของสัตว์จำนวนหลายชนิด รวมทั้งในมนุษย์ *Ruminococcus* spp. ซึ่งมีอยู่โดยธรรมชาติภายในทางเดินอาหาร เป็นแบคทีเรียที่มีส่วนสำคัญต่อการย่อย cellulose, hemicellulose และ pectin⁽¹⁰⁾ โดยอาศัยการหลั่งเอนไซม์ xylanases, cellulases, และ esterases⁽¹¹⁾ และ *Ruminococcus* spp. ยังมีความสำคัญต่อสุขภาพมนุษย์และสัตว์⁽¹⁰⁾ ซึ่งการศึกษาเกี่ยวกับแบคทีเรียในกลุ่มนี้ที่ผ่านมากลับมาในสัตว์หลายชนิด รวมทั้งมนุษย์ มีทั้งการเพาะเชื้อ^(7, 8, 10, 12, 13, 14) การใช้วิธีปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (PCR)⁽¹⁰⁾, การใช้วิธี competitive polymerase chain reaction (cPCR)^(5, 8), การใช้เทคนิค real time polymerase chain reaction (RT-PCR)⁽¹⁵⁾, การใช้ Oligonucleotide probes⁽⁷⁾, และเทคนิค DNA microarray⁽¹³⁾ โดยมีการศึกษาจากการเก็บ ตัวอย่างจากทางเดินอาหารโดยตรง^(7, 8) และ ตัวอย่างอุจจาระ^(5, 10, 12, 13, 14, 16) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาเกี่ยวกับการนำ cellulose มาใช้เป็นแหล่งพลังงาน เพื่อเป็นทางเลือกในการหาพลังงานทดแทนการใช้แหล่งพลังงานจากแป้ง เนื่องจากการใช้ cellulose เป็นแหล่งพลังงานที่มีราคาถูก และการที่มีวัสดุติด (cellulosic materials) อยู่อย่างมากมายให้สามารถนำมาใช้ได้ โดยใช้การหมักย่อย cellulose ของแบคทีเรียในวงศ์ *Ruminococcus*⁽¹⁷⁾ จึงทำให้แบคทีเรียนี้มีความน่าสนใจเป็นอย่างยิ่ง ในประเทศไทยมีการศึกษาเกี่ยวกับแบคทีเรียในทางเดินอาหารของช้างอยู่ค่อนข้างน้อย ซึ่งอาจเป็นเพราะข้อจำกัดใน

ด้านการเข้าถึงตัวอย่างและผลกระทบจากการศึกษาจากการศึกษาเพื่อตรวจหาและจำแนกเชื้อในวงศ์ *Ruminococcus* จากตัวอย่างอุจจาระของช้างเลี้ยง (captive Asian elephant) ด้วยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (PCR) ในเขตจังหวัดเชียงใหม่และลำปาง พบว่าสามารถตรวจและจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียในวงศ์ *Ruminococcus* ได้ 5 สายพันธุ์ ได้แก่ *R. bromii*, *R. albus*, *R. obeum*, *R. flavofaciens* และ *R. callidus* ตามลำดับ⁽¹⁸⁾ นอกจากนี้ยังพบอีกว่าการพบเชื้อดังกล่าวมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างลูกช้างที่ยังไม่หย่านม (อายุน้อยกว่า 2 ปี) และยังไม่เกิดพฤติกรรมกินอุจจาระของแม่กับช้างที่หย่านมแล้วและมีพฤติกรรมกินอุจจาระของแม่ช้าง⁽¹⁸⁾ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าพฤติกรรมดังกล่าวเป็นการเพิ่มเชื้อที่จำเป็นในระบบทางเดินอาหารของช้างเพื่อที่จะรองรับการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมกินอาหารของลูกช้างสำหรับระบอดิทยาของเชื้อแบคทีเรียย่อยเซลลูโลสในทางเดินอาหารของสัตว์จำพวก hindgut fermenter มีรายงานการศึกษาดังเช่นในการศึกษาเพื่อเปรียบเทียบปริมาณของ cellulolytic bacteria ชนิดหลัก 3 ชนิดในลำไส้ตันของม้าแคระ (pony) และลา (donkey) พบว่าในม้าแคระและลาในประเทศฝรั่งเศส มีปริมาณของ *R. flavofaciens* มากที่สุด และตรวจพบ *F. succinogenes* รองลงมาตามลำดับ ส่วน *R. albus* นั้นพบน้อยมากและพบว่าในระหว่างม้าแคระและลานั้น มีความแตกต่างของปริมาณแบคทีเรียเล็กน้อย ซึ่งน่าจะมาจากความแตกต่างของชนิดสัตว์ และอาหารที่ได้รับ⁽⁷⁾ แต่สำหรับงานวิจัยในม้าที่ฮอกไกโด ประเทศญี่ปุ่น พบว่าแบคทีเรียที่พบมากในทางเดินอาหารม้าคือ *F. succinogenes* ซึ่งในงานวิจัยนี้ยังแสดงให้เห็น

ถึงอิทธิพลของอาหารและฤดูกาลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียในทางเดินอาหารม้า⁽⁵⁾ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาแบคทีเรียในวงศ์ *Ruminococcus* จากตัวอย่างอุจจาระของคน พบว่า *R. obeum* เป็นสายพันธุ์ที่พบได้ในทุกตัวอย่างและมีปริมาณมากที่สุดสำหรับ *R. bromii* และ *R. callidus* พบเพียง 2 ตัวอย่างจาก 3 ตัวอย่าง ส่วน *R. albus* พบเล็กน้อยเพียง 1 ตัวอย่าง สำหรับ *R. flavefaciens* นั้นตรวจไม่พบในตัวอย่าง⁽¹⁰⁾ นอกจากนี้ยังตรวจพบสายพันธุ์อื่นด้วย ได้แก่ *R. lutii*⁽¹²⁾ และ *R. gnavus*⁽¹³⁾ ได้อีกด้วย สำหรับในสัตว์อื่น ๆ ที่มีการศึกษา ได้แก่ ตัวอย่างอุจจาระจากหนู ตรวจพบ *R. bromii*, *R. albus* และ *R. obeum* ตามลำดับ แต่ตรวจไม่พบ *R. flavefaciens* และ *R. callidus* เลย⁽¹⁰⁾ ตัวอย่างอุจจาระของลิง ตรวจพบ *R. bromii*, *R. obeum*, *R. albus* และ *R. flavefaciens* ตามลำดับแต่ตรวจไม่พบ *R. callidus*⁽¹⁰⁾ จากการศึกษาในม้า พบว่าในม้าซึ่งมีการหมักย่อยที่ลำไส้ตันเช่นเดียวกับช้าง มีแบคทีเรียในกลุ่มของ *Ruminococcus* spp. อยู่จำนวนมากเช่นกัน⁽⁷⁾ โดยเป็นแบคทีเรียในกลุ่มที่มีการย่อย cellulose ของพืชเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์สัตว์นำไปใช้ประโยชน์ได้ต่อไป แบคทีเรียกลุ่มนี้จึงมีความสำคัญต่อการหมักย่อยอาหารของช้างเช่นเดียวกับในสัตว์กลุ่มที่กินพืชเป็นอาหาร

ส่วนเชื้อแบคทีเรียอีกจำพวกหนึ่งที่ได้รับการศึกษาในประเทศไทย คือ แบคทีเรียในวงศ์ *Bacillus* จากตัวอย่างของอุจจาระของช้างเลี้ยง (captive Asian elephant) ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อและวิธีปฏิกิริยา ลูกโซ่พอลิเมอไรสึ จากการศึกษาพบว่าพบเชื้อ *B. cereus* ได้ในทุกช่วงอายุและทุกเพศ ซึ่งสัตว์

กระเพาะหมัก เช่น โค กวาง ม้า กระต่าย มีรายงานการพบเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. cereus* และ *B. circulans* จากกระเพาะอาหารส่วน Rumen ของสัตว์เคี้ยวเอื้องซึ่งแบคทีเรียสายพันธุ์ที่พบนั้น ทำหน้าที่ในการสร้าง Proteolytic enzyme⁽¹⁹⁾ นอกจากนี้การศึกษ ปริมาณของแบคทีเรียในทางเดินอาหารของม้า พบว่าแบคทีเรียชนิด Gram-positive bacilli เป็นแบคทีเรียที่พบมากที่สุดในลำไส้เล็ก กระเพาะอาหาร ลำไส้ใหญ่และลำไส้ตัน ตามลำดับ⁽²⁰⁾ นอกจากนี้ยังพบรายงานการจำแนกเชื้อในวงศ์ *Bacillus* ในสัตว์อีกหลายชนิด เช่น *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. pumilus* และ *B. fragilis* จากลำไส้ตันของกระต่าย⁽²¹⁾ และการจำแนก *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. pumilus*, *B. megaterium*, *B. clausii*, *B. firmus* และ *B. cereus* group จากอุจจาระไก่^(22, 23) เป็นต้น แบคทีเรียในวงศ์ *Bacillus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีรูปร่างแบบแท่ง เจริญได้ทั้งสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobic gram positive bacilli bacteria) มีความสามารถสร้างสปอร์ได้ (endospore forming) และมีคุณสมบัติในการทำให้เกิด hemolysis บน blood agar ซึ่งในปัจจุบันเชื้อในวงศ์ *Bacillus* มีสมาชิกทั้งสิ้น 60 สายพันธุ์ เชื้อ *Bacillus* spp. สามารถพบได้ในสิ่งแวดล้อม⁽²⁴⁾ และทางเดินอาหารของม้า⁽²⁵⁾ รวมถึงสัตว์เคี้ยวเอื้อง (ruminant) โดยมีบทบาทสำคัญในการย่อยเพื่อให้ได้สารอาหารจำพวกโปรตีน (protein degradation)⁽¹⁹⁾ นอกจากนี้มีการค้นพบประโยชน์ของ *Bacillus* spp. ด้านการนำมาใช้เป็น probiotics เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตและป้องกันการเกิดโรคในทางเดินอาหารของสุกร⁽²⁶⁾ ม้า⁽²⁵⁾ กระต่าย⁽²¹⁾ และหนู⁽²⁷⁾ และ *Bacillus* spp.

บางชนิดยังเป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษในคนอีกด้วย⁽²⁸⁾ การศึกษาเกี่ยวกับ *Bacillus* spp. ที่ผ่านมามีทั้งวิธีเพาะเชื้อและทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี⁽²⁹⁾ การศึกษาทางอณูชีววิทยา โดยการใช้วิธีปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอไรส (polymerase chain reaction: PCR)^(30, 31) การใช้เทคนิค multiplex real-time PCR⁽³²⁾ เช่น การตรวจจำแนก *Bacillus* spp. จาก Cheonggukjang โดยวิธี PCR ซึ่งใช้ *B. subtilis* species specific primer ที่สามารถแยก *B. subtilis* ออกจาก *B. licheniformis* และ *B. amyloliquefaciens* ได้⁽³³⁾ อีกทั้งยังมีการจำแนก *B. cereus* group จากอาหารทะเลโดยวิธี PCR ซึ่งเลือกใช้ primers ที่ได้รับการออกแบบจาก *groEL* gene ที่จำเพาะต่อเชื้อ *B. cereus*⁽³⁰⁾

ดังที่ได้นำเสนอแล้วข้างต้น พบว่ามีแบคทีเรียไร้อากาศหรือแบคทีเรียหมักย่อยอยู่ที่ลำไส้ต้นของช้างมีหน้าที่ต่างๆ เช่นเดียวกับในม้าซึ่งมีระบบการหมักย่อยเช่นเดียวกัน มีแบคทีเรียในวงศ์ *Ruminococcus*, *Fibrobacter*, *Clostridium* เป็นแบคทีเรียหลักในลำไส้ต้น โดยเป็นแบคทีเรียในกลุ่มที่มีการย่อย cell wall ของอาหารจำพวกพืช เพื่อให้ได้ผลผลิตที่สัตว์นำไปใช้ประโยชน์ได้ต่อไป และนอกจากนั้นจากการศึกษาเกี่ยวกับ Proteolytic bacteria ในวงศ์ *Bacillus* พบว่าสปอร์ของ *Bacillus subtilis* และ *Bacillus cereus* สามารถใช้เป็น probiotics ในม้าได้อีกด้วย⁽²⁵⁾ ดังนั้นแบคทีเรียกลุ่มนี้จึงมีความสำคัญต่อการหมักย่อยอาหารของช้างเช่นเดียวกับในสัตว์กลุ่มที่กินพืชเป็นอาหาร แต่เนื่องจากการศึกษาแบคทีเรียในกลุ่มที่ว่านี้ยังไม่มีรายงานการศึกษาในช้างหรือมีเพียงแค่การรายงานการพบโรคจากแบคทีเรียในทางเดินอาหาร

เท่านั้น ดังนั้นการศึกษาเพื่อให้เข้าใจถึงระบบนิเวศน์ของแบคทีเรียหมักย่อยในทางเดินอาหารของช้างจะสามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในทางคลินิก และการศึกษาเกี่ยวกับความสำคัญของเชื้อในระบบทางเดินอาหารของช้างต่อไปได้

เอกสารอ้างอิง

1. กฤษฎา ลังกา. คู่มือดูแลสุขภาพช้างเบื้องต้น. เชียงใหม่: สาขาวิชาคลินิกช้างและสัตว์ป่า กลุ่มวิชาสัตว์เลี้ยงเป็นเพื่อน คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2545.
2. จุไร เล่าห์ประเสริฐ, บรรณานิการ, หนังสือความรู้เรื่องช้าง. กรุงเทพฯ: กองสัตว์รีกรษ์ กรมปศุสัตว์, สถาบันวิจัยและบริการสุขภาพช้างแห่งชาติ, 2543.
3. McBee RH. Significance of intestinal microflora in herbivory. *Ann Rev Eco Syst.* 1971; 2(1): 165 - 76.
4. Wolin MJ. Fermentation in the rumen and human large intestine. *Science.* 1981; 213(4515):1463-8.
5. Koike S. Fecal Bacteria in Hokkaido Native Horses as Characterized by Microscopic Enumeration and Competitive Polymerase Chain Reaction Assays. *J Equi Sci.* 2000; 11(2): 45-50.
6. Chen J, Weimer PJ. Competition among three predominant ruminal cellulolytic bacteria in the absence or presence of non-cellulolytic bacteria. *Microbiology.* 2001; 147(1): 21-30.
7. Julliand V. Identification of *Ruminococcus flavefaciens* as the predominant cellulolytic bacterial species of the equine cecum. *Appl Environ Microbiol.* 1999; 65(8): 3738 - 41.

8. Koike S, Kobayashi Y. Development and use of competitive PCR assays for the rumen cellulolytic bacteria: *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus albus* and *Ruminococcus flavefaciens*. FEMS Microbiol Lett. 2001; 204(2): 361 - 6.
9. Mackie RI, Wilkins CA. Enumeration of anaerobic bacterial microflora of the equine gastrointestinal tract. App Environ Microbiol. 1988 Sep; 54(9):2155-60.
10. Wang RF, Cao WW, Cerniglia CE. PCR detection of *Ruminococcus* spp. in human and animal faecal samples. Mol Cell Probes. 1997; 11(4): 259-65.
11. Ding SY. Cellulosomal Scaffoldin-Like Proteins from *Ruminococcus flavefaciens*. J Bacteriol. 2001; 183(6): 1945-53.
12. Simmering R. *Ruminococcus luti* sp. isolated from a human faecal sample. System. Appl Microbiol. 2002; 25: 189-93.
13. Wang RF, Beggs ML. DNA microarray analysis of predominant human intestinal bacteria in fecal samples. Mol Cell Probes. 2004; 18(4): 223-34.
14. Wedekind KJ, Mansfield HR, Montgomery L. Enumeration and isolation of cellulolytic and hemicellulolytic bacteria from human feces. App Envi Microbiol. 1988; 54(6): 1530-5.
15. Hastie PM, Mitchell K, Murray MD. Semi-quantitative analysis of *Ruminococcus flavefaciens*, *Fibrobacter succinogenes* and *Streptococcus bovis* in the equine large intestine using real-time polymerase chain reaction. British J Nutri. 2008; 100: 561-8.
16. Moore BE, Dehority BA. Effects of diet and hindgut defaunation on diet digestibility and microbial concentrations in the cecum and colon of the horse. J Anim Sci. 1993; 71:3350-58.
17. Weimer PJ, Conner AH, Lorenz LF. Solid residues from *Ruminococcus* cellulose fermentations as components of wood adhesive formulations. App Microbiol Biotech. 2003; 63(1): 29-34.
18. Sthitmatee N, Mahatnirunkul P, Keawmong P, Boontong P, Rojanasthien S, Boonmar S. PCR detection and identification of genus *Ruminococcus* in captive Asian elephants (*Elephas maximus*) faecal samples. In Proceeding the 149th meeting of the Japanese Society of Veterinary Science, Nippon Veterinary and Life Science University, Musashino, Tokyo, Japan.
19. Bryant MP. Bacterial species of the rumen. Bacteriol Rev. 1959 Sep; 23(3):125-53.
20. Kern DL, Slyter LL, Leffel EC, Weaver JM, Oltjen RR. Ponies vs. steers: microbial and chemical characteristics of intestinal ingesta. J Anim Sci. 1974 Mar;38(3):559-64.
21. Kritas KS , Fortomaris P, Tzika E, Arsenos G, Koptopoulos G. Effect of inclusion of probiotics on micro-organisms content, health and performance of flattening rabbits. In 9th World Rabbit Congress.2008 10-13 June, page 717-22.

22. Barbosa TM, Serra CR, La Ragione RM, Woodward MJ, Henriques AO. Screening for *Bacillus* spp. isolates in the broiler gastrointestinal tract. *Appl Environ Microbiol.* 2005 Feb;71(2):968-78.
23. Aguilar C, Vlamakis H, Losick R, Kolter R. Thinking about *Bacillus subtilis* as a multicellular organism. *Current Opinion in Microbiology.* 2007;10(6):638-43.
24. Nicholson WL. Roles of *Bacillus* endospores in the environment. *Cell Mol Life Sci.* 2002 Mar;59(3):410-6.
25. Casula G, Cutting SM. *Bacillus* probiotics: spore germination in the gastrointestinal tract. *Appl Environ Microbiol.* 2002 May;68(5):2344-52.
26. Scharek L, Altherr BJ, Tolke C, Schmidt MFG. Influence of the probiotic *Bacillus cereus* var. *toyoi* on the intestinal immunity of piglets. *Veterinary Immunology and Immunopathology.* 2007;120(3-4):136-47.
27. Fukushima M, Nakano M. The effect of a probiotic on faecal and liver lipid classes in rats. *British Journal of Nutrition.* 1995;73(05):701-10.
28. Kotiranta A, Lounatmaa K, Haapasalo M. Epidemiology and pathogenesis of *Bacillus cereus* infections. *Microbes and Infection.* 2000;2(2):189-98.
29. Spinosa MR, Braccini T, Ricca E, De Felice M, Morelli L, Pozzi G, et al. On the fate of ingested *Bacillus* spores. *Research in Microbiology.* 2000;151(5):361-8.
30. Chang YH, Shangkuan YH, Lin HC, Liu HW. PCR assay of the groEL gene for detection and differentiation of *Bacillus cereus* group cells. *Appl Environ Microbiol.* 2003 Aug;69(8):4502-10.
31. Das S, Surendran PK, Thampuran NK. PCR-based detection of enterotoxigenic isolates of *Bacillus cereus* from tropical seafood. *Indian J Med Res.* 2009 Mar;129(3):316-20.
32. Jorgensen C, Leser TD. Estimating amplification efficiency improves multiplex real-time PCR quantification of *Bacillus licheniformis* and *Bacillus subtilis* spores in animal feed. *Journal of Microbiological Methods.* 2007;68(3):588-95.
33. Kwon G-H, Lee H-A, Park J-Y, Kim JS, Lim J, Park C-S, et al. Development of a RAPD-PCR method for identification of *Bacillus* species isolated from Cheonggukjang. *International Journal of Food Microbiology.* 2009;129(3):282-7.